

PUB-NO: DE019828547A1
DOCUMENT- DE 19828547 A1
IDENTIFIER:

TITLE: Arrangement for detecting biomolecular reactions and
interactions eliminating short-duration light intensity and
direction fluctuations on measurements

PUBN-DATE: January 5, 2000

INVENTOR-INFORMATION:

NAME	COUNTRY
GRAEFE, DIETER	DE
ELENDER, GUNTHER	DE
GRAU, WOLFGANG	DE
DOBSCHAL, HANS-JUERGEN	DE
BERTHEL, GUENTER	DE

ASSIGNEE-INFORMATION:

NAME	COUNTRY
ZEISS CARL JENA GMBH	DE

APPL-NO: DE19828547

APPL-DATE: June 26, 1998

PRIORITY-DATA: DE19828547A (June 26, 1998)

INT-CL (IPC): G01 N 021/31 , G01 N 021/39 , G01 N 021/47 , G01 J 003/26

EUR-CL (EPC): G01N021/31

ABSTRACT:

CHG DATE=20001128 STATUS=O>Arrangement has a specimen or micro-titre plate, a white light source (5), a divider plate (14) and optical devices for forming images of measurement and reference light beams on a position resolving detector array (22) of a CCD camera connected to an evaluation unit or computer. Optical image elements perform simultaneous, overlap-free imaging of the measurement and reference beam paths (3,4) at different positions on the array. A monochromator with several interference fillers (9) is arranged in the illumination light path (1). A collimating unit (11)

is arranged between the monochromator and divider plate or specimen or micro-titre plate. An optical imaging element (17) for full spatial separation of the measurement and reference beams is arranged in or near an intermediate image or aperture stop plane (18).



**19 BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND**



**DEUTSCHES
PATENT- UND
MARKENAMT**

Offenlegungsschrift
DE 198 28 547 A 1

(21) Aktenzeichen: 198 28 547.7
 (22) Anmeldetag: 26. 6. 1998
 (43) Offenlegungstag: 5. 1. 2000

(51) Int. Cl.⁷:
G 01 N 21/31
G 01 N 21/39
G 01 N 21/47
G 01 J 3/26

DE 198 28 547 A1

⑦ Anmelder:
Carl Zeiss Jena GmbH, 07745 Jena, DE

72) Erfinder:
Gräfe, Dieter, Dipl.-Phys., 07745 Jena, DE; Elender,
Gunther, Dr., 94081 Fürstenzell, DE; Grau,
Wolfgang, Dipl.-Ing., 07646 Stadtroda, DE;
Dobschal, Hans-Jürgen, Dipl.-Math., 07749 Jena,
DE; Berthel, Günter, Dipl.-Ing., 07743 Jena, DE

⑤⑥ **Entgegenhaltungen:**

DE	196 15 366 A1
DE	195 44 253 A1

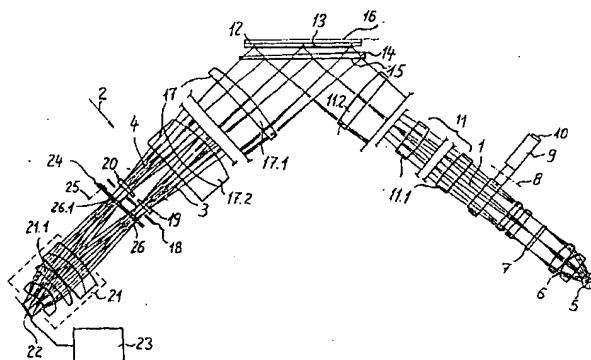
Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

Prüfungsantrag gem. § 44 PatG ist gestellt

⑤4) Anordnung zum Nachweis biomolekularer Reaktionen und Wechselwirkungen

(57) Die Erfindung bezieht sich auf eine Anordnung zum Nachweis biomolekularer Reaktionen und Wechselwirkungen nach dem RfS-Screening-Verfahren und umfasst eine Proben- oder Mikrotiterplatte (PP oder MTP), eine Weißlichtquelle (5) mit nachgeordnetem Beleuchtungsstrahlengang (1), eine Teilerplatte, auf der die PP oder die MTP aufgesetzt ist, zur Erzeugung eines Detektionsstrahlenganges (2) und optische Mittel zur Abbildung des Meß- und Referenzstrahlenganges (3 und 4) auf ein ortsaufösendes Detektorarray (22) einer CCD-Kamera, welches mit einer Auswerteeinheit oder einem Rechner (23) zur Ermittlung von Meßwerten verbunden ist.

Es sind optische Abbildungselemente zur simultanen und überlappungsfreien Abbildung des Meß- und Referenzstrahlenganges (3; 4) an unterschiedlichen Positionen auf dem Detektorarray (22) der CCD-Kamera, ein mehrere Interferenzfilter (9) umfassender Monochromator, welcher im Beleuchtungsstrahlengang (1) der Lichtquelle (5) nachgeordnet ist, eine den Beleuchtungsstrahlengang (1) kollimierende, aus optischen Gliedern (11.1) bestehende Baugruppe (11), die zwischen dem Monochromator und der Teilerplatte (14) bzw. der Proben- oder Mikrotiterplatte angeordnet sind, und ein optisches Ausbildungselement (17) zur vollständigen räumlichen Trennung des Meß- und Referenzstrahlenganges in oder in der Nähe einer Zwischenbild- oder Aperturblendenebene (18; 36; 41) vorgesehen.



DE 198 28 547 A 1

Beschreibung

Die Erfindung betrifft eine Anordnung zum Nachweis biomolekularer Reaktionen und Wechselwirkungen nach dem Verfahren zur reflektometrischen Interferenzspektroskopie (RIFS-Screening-Verfahren).

Aus der DE 196 15 366 A1 ist ein Verfahren und eine Einrichtung zum Nachweis physikalischer, chemisch er, biochemischer und biologischer Reaktionen und Wechselwirkungen bekannt. Danach werden die Wechselwirkungen von Biomolekülen mit biofunktionalisierten Schichten in flüssiger Phase über Weißlichtinterferenz simultan an einer Vielzahl von Proben detektiert. Wesentlich für diese Meßtechnologie sind die Parameter "Nachweis der kleinsten sicher detektierbaren Anlagerung und Stabilität dieses Ausgangssignals über den Anlagerungszeitraum". Bei der Einrichtung zur Durchführung des Verfahrens, welche in dieser Druckschrift beschrieben ist, wird eine auf einer Substratplatte oder einer Mikrotiterplatte angeordnete Vielzahl von Proben mit Licht einer Lichtquelle über einen Beleuchtungsstrahlengang, in welchem u. a. ein Kollimator, ein Monochromator und Polarisatoren angeordnet sind, beleuchtet. Die Substrat- oder die Mikrotiterplatte sind dabei auf einer keilförmigen Trägerplatte angeordnet, mit welcher ein Meß- und ein Referenzstrahlengang erzeugt wird, welche über nachgeordnete optische Elemente auf ein Detektorarray einer CCD-Kamera gebildet werden.

Weiterhin ist dieser Druckschrift zu entnehmen, daß in einer Fokusebene, in welcher der Meß- und Referenzstrahlengang abgebildet werden, eine umschaltbare Blende vorgesehen ist, mit der alternativ diese beiden Strahlengänge auf das Detektorarray abbildbar sind. Zusätzlich wird durch ein Ablenkprisma im Referenzstrahlengang erreicht, daß beide genannten Strahlengänge an einem gleichen Ort auf dem Detektorarray abgebildet werden, wodurch unterschiedliche Empfindlichkeiten der pixelförmigen Empfängerelemente des Arrays ausreferenziert werden. Mit dieser umschaltbaren Blende ist es lediglich möglich, Meß- und Referenzstrahlengang zeitlich unterschiedlich auf dem Array abzubilden, womit jedoch insbesondere kurzzeitige Lichtintensitäts- und Strahlrichtungsschwankungen der Lichtquelle sowie Schwankungen der spektralen Durchlaßcharakteristik des Monochromators nicht eliminiert werden, welche zu größeren Meßunsicherheiten führen können.

So ist es die Aufgabe der Erfindung, eine Anordnung zum Nachweis biomolekularer Reaktionen und Wechselwirkungen zu schaffen, bei welcher mittels geeigneter Baugruppen und eines geeigneten Referenzierungskonzeptes die vorgenannten Schwankungen und deren Auswirkungen auf die Messungen weitestgehend eliminiert sind.

Erfindungsgemäß wird diese Aufgabe bei einer Anordnung nach dem Oberbegriff des ersten Patentanspruchs mit den in kennzeichnenden Teil dieses Anspruchs aufgeführten Mitteln gelöst. In den Unteransprüchen sind weitere Ausgestaltungen und Einzelheiten der Erfindung beschrieben.

So ist es vorteilhaft, wenn eine schaltbare Verschluss Einheit in oder in der Nähe der Zwischenbild- oder Aperturblende Ebene angeordnet ist. Somit wird es ermöglicht, durch Sperrung des Meß- und Referenzstrahlenganges Dunkelreferenzen aufzunehmen und damit den Einfluß von Fremdlicht auf die Messungen zu eliminieren.

Weiterhin ist es vorteilhaft, wenn die der getrennten simultanen Abbildung des Meß- und Referenzstrahlenganges dienenden, weiteren optischen Abbildungselemente in oder in der Nähe der Aperturblende Ebene des aus diesen beiden Strahlengängen bestehenden Detektorstrahlenganges angeordnet sind.

Gemäß einer weiteren Ausführungsform der Erfindung ist

für die Abbildung des Meß- und Referenzstrahlenganges auf das Empfängerarray der CCD-Kamera ein gemeinsames optisches Abbildungselement, beispielsweise eine beide Strahlengänge erfassende Linse, vorgesehen. Um eine überlappungsfreie Trennung des Meß- und des Referenzstrahlenganges in der Ebene des Detektors zu erreichen, ist dem optischen Abbildungselement in jedem dieser Strahlengänge je mindestens ein Ablenkelement, beispielsweise in Form je eines Ablenkprismas, in Lichtrichtung vorgeordnet.

Eine weitere vorteilhafte Ausführungsform der Erfindung ergibt sich, wenn sowohl der Meß- als auch der Referenzstrahlengang je ein eigenes optisches Abbildungselement zur räumlich getrennten Abbildung dieser Strahlengänge auf das Empfängerarray besitzen. Dieses Abbildungselement kann z. B. eine Linse oder auch ein aus mehreren Linsen zusammengesetztes optisches Abbildungssystem sein.

Gemäß einem weiteren Merkmal der Erfindung umfaßt der im Beleuchtungsstrahlengang vorgesehene, der polychromatischen Lichtquelle in Lichtrichtung nachgeordnete Monochromator eine umschaltbare Filterscheibe, in der mehrere Interferenzfilter angeordnet sind. Es hat sich in der Praxis herausgestellt, daß bei der Arbeit nach dem RIFS-Verfahren auch mit einer geringeren Anzahl von spektralen Kanälen eine hohe Detektiergenauigkeit erreicht werden kann, wodurch sich eine nicht unwesentliche Vereinfachung der Auswertung der Messungen ergibt. So kann bereits mit mindestens drei verschiedenen Interferenzfiltern, also in drei spektralen Kanälen, erfolgreich gearbeitet werden. Vorteilhaft hat sich die Arbeit in sechs bis acht spektralen Kanälen, also auch mit eben so vielen Interferenzfiltern erwiesen. Bei den Messungen der durch die angelagerten Proben bedingten Änderungen der Schichtdicke eines auf der Probenplatte aufgetragenen, geeigneten Polymerfilmes bilden die spektralen Kanäle gewissermaßen den Maßstab für diese Messungen. Die Einstellgenauigkeit und die Stabilität der spektralen Lage der Interferenzextrema und deren Abstände voneinander sind wesentliche Kriterien für die Auswahl des Monochromators. Diese werden in idealer Weise durch Interferenzfiltermonochromatoren erfüllt. Hinzu kommt der hohe Lichtleitwert dieser Monochromatoren, der bei der großflächigen Ausleuchtung der Proben- oder Mikrotiterplatten von Bedeutung ist.

Grundsätzlich könnten jedoch auch Gittermonochromatoren im Beleuchtungsstrahlengang eingesetzt werden. Jedoch besitzen diese u. a. den Nachteil, daß die Lichtausbeute gegenüber den Interferenzfiltermonochromatoren wesentlich geringer ist.

So ist es ferner vorteilhaft, wenn eine keilförmige Teilerplatte vorgesehen ist, deren mindestens eine optisch wirksame Oberfläche eine Antireflexionsschicht aufweist. Auch bei einer planparallelen Teilerplatte ist es vorteilhaft, wenn mindestens eine der optisch wirksamen Oberflächen dieser Teilerplatte mit einer Antireflexionsschicht versehen ist.

Bei Verwendung einer Planparallelplatte als Strahlenteiler ist diese so im Strahlengang anzuordnen, daß sie mit der die Proben tragenden Proben- oder Mikrotiterplatte einen Winkel, vorzugsweise einen kleinen Winkel, einschließt. Die zur Erzeugung des Referenzstrahlenganges nicht benutzte Oberfläche der Planparallelplatte ist mit einer Antireflexionsschicht versehen. Die andere Oberfläche der Platte ist verteilhafterweise mit einer teilreflektierenden Schicht so zu versehen, daß über den verwendeten Spektralbereich ein Ausgleich der reflektierten Intensitäten in Meß- und Referenzstrahlengang erreicht wird.

Eine weitere Ausführungsform der erfindungsgemäßen Anordnung ergibt sich, wenn die den Beleuchtungsstrahlengang kollimierenden optischen Elemente und/oder die optischen Abbildungselemente zur Abbildung des Meß- und

Referenzstrahlenganges in der Aperturblenden- oder Zwischenbildebene und/oder die weiteren optischen Abbildungselemente zur Abbildung dieser Aperturblenden- oder Zwischenbildebene auf das ortsauflösende Detektorarray der CCD-Kamera abbildende Reflektoren sind. So ist es vorteilhaft, wenn die optischen Abbildungselemente zur Abbildung des Meß- und Referenzstrahlenganges in der Aperturblenden- oder Zwischenbildebene und/oder die weiteren optischen Abbildungselemente zur Abbildung dieser Aperturblenden- oder Zwischenbildebene auf das ortsauflösende Detektorarray der CCD-Kamera konvexe und konkave und/oder ebene Reflektoren sind.

Durch die Anwendung reflektierender Abbildungselemente, wie z. B. Spiegeloptiken in Form von Konkavspiegeln, werden die Farbfehler bei der Abbildung weitestgehend minimiert.

Die Erfindung soll nachstehend an einem Ausführungsbeispiel näher erläutert werden. In der Zeichnung zeigen

Fig. 1 den Strahlengang einer erfindungsgemäßen Anordnung mit einem optischen Abbildungssystem im Detektionsstrahlengang mit einem gemeinsamen Objektiv,

Fig. 2 ein optisches Abbildungssystem im Detektionsstrahlengang mit zwei getrennten abbildenden Objektiven,

Fig. 3 eine Anordnung mit einer Planparallelplatte als Teilerplatte und

Fig. 4 eine Anordnung mit Reflektoren als abbildende optische Elemente.

In **Fig. 1** ist der Strahlengang der Anordnung zum Nachweis biomolekularer Reaktionen und Wechselwirkungen nach dem RfS-Screening-Verfahren dargestellt, wobei von konstruktiven Einzelheiten abgesehen wird. Die einzelnen Bauteile und -gruppen werden weitgehend schematisch dargestellt. In der Anordnung sind ein Beleuchtungsstrahlengang 1 und ein Detektionsstrahlengang 2 vorgesehen, wobei der Detektionsstrahlengang 2 einen Meßstrahlengang 3 und einen Referenzstrahlengang 4 umfaßt. Im Beleuchtungsstrahlengang 1 ist eine polychromatische Lichtquelle 5 angeordnet, der unmittelbar in Lichtrichtung ein Kollimator 6 und ein Polarisator 7, z. B. in Form eines Polarisationsfilters, nachgeordnet sind. Im durch den Kollimator 6 parallel gerichteten Teil des Beleuchtungsstrahlengang 1 ist nach dem Polarisator 7 als Monochromator ein Interferenzfiltermonochromator mit einer um eine Achse 8 verstellbaren, mehrere Interferenzfilter 9 umfassenden Filterscheibe 10 vorgesehen. Dieser Interferenzfiltermonochromator ist mit mindestens drei verschiedenen Interferenzfiltern 9 ausgestattet, wobei sich in der Praxis die Arbeit in sechs bis acht spektralen Kanälen und mit eben so vielen Interferenzfiltern 9 als vorteilhaft für eine hohe Genauigkeit der Messungen bei relativ geringem technischen und ökonomischen Aufwand erwiesen hat. Grundsätzlich können jedoch auch mehr Interferenzfilter 9 eingesetzt werden.

Der Filterscheibe 10 ist eine aus mehreren optischen Gliedern 11.1 und 11.2 bestehende Baugruppe 11 nachgeordnet, welche ein teleskopisches System darstellt und einen parallelen Strahlengang zur Beleuchtung der die Proben tragenden Mikrotiter- oder Probenplatte 13 erzeugt. Diese Probenplatte 13 ist mit einer aus einem geeigneten Polymer bestehenden Trägerschicht 12 belegt, auf der die Proben (nicht dargestellt) angeordnet sind. Dieser Probenplatte 13 ist eine keilförmige Teilerplatte 14 vorgeordnet, die lichtquellenseitig eine teilverspiegelte Oberfläche 15 besitzt. An dieser teilverspiegelten Oberfläche 15 wird durch Reflexion der Referenzstrahlengang 4 erzeugt. Das die Teilerplatte 14 durchlaufende Licht trifft auf die die Proben tragende Oberfläche 16 der Probenplatte 13 und wird dort, durch die aufgetragenen Proben beeinflusst, reflektiert und bildet den Meßstrahlengang 3. Meßstrahlengang 3 und Referenzstrahlengang 4

werden dann durch ein optische Abbildungselemente 17.1; 17.2 umfassendes Abbildungssystem 17 in einer Aperturblendenebene 18 fokussiert, in welcher oder in deren Nähe, den beiden Strahlengängen 3 und 4 zugeordnet, jeweils ein Ablenkprisma 19 und 20 angeordnet ist, die der räumlichen Trennung von Meß- 3 und Referenzstrahlengang 4 dienen. Anstelle dieser Ablenkprismen 19; 20 können auch Reflektoren in einer entsprechenden Anordnung zur Trennung und Abbildung von Meß- und Referenzstrahlengang vorgesehen werden. Eine beispielsweise Ausführung dazu ist weiter unten im Zusammenhang mit **Fig. 4** angegeben. Mit einem nachgeordneten, aus optischen Elementen 21.1 zusammengesetzten Objektiv 21 werden das Bild von der der Proben tragenden Oberfläche 16 oder von der Unterseite einer verwendeten Mikrotiterplatte als Meßstrahlengang 3 und daneben das Bild des Referenzstrahlenganges 4 auf einem ortsauflösenden, aus CCD-Elementen bestehenden Detektorarray 22 einer an sich bekannten CCD-Kamera erzeugt, das mit einer Auswerteeinheit oder mit einem Rechner 23 verbunden ist. Die Ablenkprismen 19 und 20 spreizen die zugeordneten Strahlengänge 3 und 4 so weit auseinander, daß in der Ebene des Detektorarrays 22 die Bilder von Meß-3 und Referenzstrahlengang 4 soweit voneinander getrennt sind, daß eine gegenseitige Überlappung vermieden wird. Diese beiden Strahlengänge 3 und 4 werden auf dem Detektorarray 22 simultan abgebildet. Die von dem Detektorarray 22 erzeugten elektrischen Meßsignale werden im Rechner 23 zu entsprechenden, die biomolekulare Reaktion oder Wechselwirkung oder die zu untersuchende Verbindung kennzeichnenden Meßwerten weiterverarbeitet.

Bei der in **Fig. 1** dargestellten Anordnung ist ferner in der Aperturblendenebene 18 oder in deren Nähe ein Verschuß 24 vorgesehen, mit dem der Meß- und Referenzstrahlengang 3 und 4 gesperrt oder freigegeben werden können. Eine solche Maßnahme wird erforderlich, um eine Dunkelmessung vorzunehmen und ein zur Korrektur oder für Eichzwecke benötigtes Dunkelsignal zu erhalten, welches zur Korrektur der Meßwerte verwendet werden kann.

Dieser Verschuß 24 ist in **Fig. 1** der Einfachheit halber als eine um eine Achse 25 drehbare Scheibe mit Öffnungen 26 und 26.1 dargestellt, die aus dem Detektorstrahlengang 2 herausgeschwenkt werden können, wenn dieser Strahlengang unterbrochen werden soll und eine Abbildung auf das Detektorarray 22 nicht erfolgen soll. Es ist jedoch auch eine andere geeignete Konstruktion zur Unterbrechung des Detektorstrahlenganges denkbar.

In **Fig. 2** ist eine Anordnung dargestellt, bei welcher die beiden in oder in der Nähe der Aperturblendenebene 18 abgebildeten Strahlengänge (Meß- 3 und der Referenzstrahlengang 4), von denen nur die Hauptstrahlen dargestellt sind, durch zwei gesonderte Abbildungsoptiken, z. B. Objektive 27 und 28, auf das Detektorarray 22 abgebildet werden. In der Zwischenbildebene 18 oder in deren Nähe ist auch bei dieser Ausführungsform der Erfindung ein Verschuß 29 mit einer einem jeden Strahlengang zugeordneter Öffnung 30 und 31 vorgesehen. Wie die **Fig. 2** zeigt, ist die Öffnung 30 dem Meßstrahlengang 3 und die Öffnung 31 dem Referenzstrahlengang 4 zugeordnet. Auch bei dieser Ausführung ist der Verschuß 29 schaltbar, so daß der Meßstrahlengang 3 und der Referenzstrahlengang 4 unterbrochen werden können. Diese Schaltbarkeit ist durch den Doppelpfeil 32 angedeutet und kann durch ein Verschieben oder Verdrehen des Verschlusses 29 erfolgen. Die übrigen, in der **Fig. 2** eingetragenen Bezugszeichen kennzeichnen die gleichen Bauteile wie in **Fig. 1**.

Fig. 3, in welcher gleiche Bezugszeichen auch funktionsgleiche Bauteile kennzeichnen, zeigt eine Ausführungsform der Erfindung, bei welcher die Teilerplatte als eine Planpar-

allelplatte 33 ausgebildet ist. An der Oberfläche 34 dieser Planparallelplatte 33, die unter einem Winkel α zur die Proben (nicht dargestellt) tragenden Mikrotiter- oder Probenplatte 13 angeordnet ist, erfolgt die Strahlenteilung. Durch Reflexion an der Oberfläche 34 wird der Referenzstrahlengang 4 erzeugt. Das diese Oberfläche 34 passierende Licht wird an der die Proben tragenden Oberfläche 35 der Probenplatte 13 reflektiert und bildet den Meßstrahlengang 3. Durch die gegenseitige Neigung der Probenplatte 13 und der Planparallelplatte 33 um den Winkel α wird erreicht, daß Meß- und Referenzstrahlengang 3; 4 in einer Aperturblenden-ebene 36 voneinander getrennt werden. Durch die Objektive 27; 28 werden auf dem Detektorarray 22 Meß- und Referenzstrahlengang 3; 4 räumlich voneinander getrennt, jedoch simultan, abgebildet.

In Fig. 4 ist der Strahlengang einer erfindungsgemäße Anordnung dargestellt, bei welcher als abbildende optische Elemente Reflektoren mit gekrümmten und/oder ebenen Reflexionsflächen vorgesehen sind. Bei den in dieser Fig. 4 dargestellten Strahlenverläufen von Meß- und Referenzstrahlengang 3 und 4 sind der Einfachheit und Übersichtlichkeit halber lediglich die Hauptstrahlen eingezeichnet. Wie bereits im Zusammenhang mit den anderen Figuren beschrieben, wird bei dieser Anordnung durch Reflexion an der Teilerplatte 14 aus dem von der nicht dargestellten Lichtquelle kommenden Lichtbündel des Beleuchtungsstrahlenganges 1 der Referenzstrahlengang 4 erzeugt. Durch Reflexion an der den Proben zugewandten und mit diesen über eine nicht eingezeichnete Trägerschicht in Verbindung stehenden Oberfläche 16 der Probenplatte 13 wird der Meßstrahlengang 3 erzeugt.

Mit einem abbildenden Reflektor 40, welcher als ein konkaver Spiegel dargestellt ist, und einem aus weiteren Reflektoren 42; 43; 44 bestehenden Reflektorsystem 47 werden der Meß- und der Referenzstrahlengang 3 und 4 gleichzeitig, jedoch räumlich voneinander getrennt, an unterschiedlichen Positionen 45; 46 auf dem Detektorarray 22 abgebildet. Wie weiterhin die Fig. 4 zeigt, ist dem Meßstrahlengang 3 der Reflektor 42 und dem Referenzstrahlengang 4 der Reflektor 43 zugeordnet, wobei jeder dieser beiden Reflektoren 42 und 43 das auf ihn auftreffende Licht auf einen mit ebenen oder gekrümmten Reflexionsflächen versehenen Reflektor 44 lenkt, von dem es auf das Detektorarray 22 geleitet wird, welches auch hier, wie bei der Ausführung nach Fig. 1, mit dem Rechner 23 zur Weiterverarbeitung der durch die CCD-Elemente des Detektorarray 22 erzeugten Signale verbunden ist.

In diesem Teil des Strahlenganges ist zwischen dem Reflektor 40 und dem Reflektorsystem 47 in oder in der Nähe einer Aperturblenden-ebene 41 der Verschuß 29 zur Unterbrechung bzw. Freigabe des Meß- und Referenzstrahlenganges 3 und 4 angeordnet. Mit dem Doppelpfeil 32 ist die Verstellmöglichkeit des Verschlusses 29 veranschaulicht.

Mit der erfindungsgemäßen Anordnung werden durch die simultane Abbildung der auf die Probe auffallenden und reflektierten Strahlungsanteile und der Strahlungsanteile des Referenzstrahlenganges auf dem Empfängerarray 22 Kurz- und Langzeitschwankungen der Lichtquelle 5 weitestgehend eliminiert. Damit wird den an eine Referenzierung gestellten Anforderungen nach möglichst identischen Verhältnissen im Meß- und Referenzstrahlengang 3 und 4 weitestgehend Rechnung getragen. Die hier gezeigte Referenzierung ist identisch bezüglich der Wellenlänge, des Probenortes, der Strahlrichtung, der Apertur und auch der Zeit.

Patentansprüche.

1. Anordnung zum Nachweis biomolekularer Reaktio-

nen und Wechselwirkungen nach dem RIFS-Screening-Verfahren, umfassend

- eine Proben- oder Mikrotiterplatte (PP oder MTP) zur Aufnahme der zu untersuchenden Proben,
- eine Weißlichtquelle mit nachgeordnetem Beleuchtungsstrahlengang zur Beleuchtung der Proben,
- eine Teilerplatte, auf der die PP oder die MTP aufgesetzt ist, zur Erzeugung eines aus Meß- und Referenzstrahlengang bestehenden Detektionsstrahlenganges,
- und optische Mittel zur Abbildung zur Abbildung des Meß- und Referenzstrahlenganges auf ein ortsauflösendes Detektorarray einer CCD-Kamera, welches mit einer Auswerteeinheit oder einem Rechner zur Ermittlung von Meßwerten verbunden ist, **gekennzeichnet durch**
- optische Abbildungselemente zur simultanen und überlappungsfreien Abbildung des Meß- und Referenzstrahlenganges (3; 4) an unterschiedlichen Positionen auf dem Detektorarray (22) der CCD-Kamera,
- einen mehrere Interferenzfilter (9) umfassenden Monochromator, welcher im Beleuchtungsstrahlengang (1) der Lichtquelle (5) nachgeordnet ist,
- eine den Beleuchtungsstrahlengang (1) kollimierende, aus optischen Gliedern (11.1) bestehende Baugruppe (11), die zwischen dem Monochromator und der Teilerplatte (14) bzw. der Proben- oder Mikrotiterplatte angeordnet sind,
- und ein optisches Abbildungselemente (17) zur vollständigen räumlichen Trennung des Meß- und Referenzstrahlenganges in oder in der Nähe einer Zwischenbild- oder Aperturblenden-ebene (18; 36; 41).

2. Anordnung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß ein schaltbarer Verschuß (24) in oder in der Nähe der Zwischenbild- oder Aperturblenden-ebene (18) angeordnet ist.

3. Anordnung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die besagten weiteren optischen Abbildungselemente in oder in der Nähe der Aperturblenden-ebene (18) des Detektionsstrahlenganges (2) angeordnet sind.

4. Anordnung nach Anspruch 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß in der Aperturblenden-ebene je eine gesonderte Abbildungsoptik (27; 28) für den Meß- und für den Referenzstrahlengang (3; 4) zur Abbildung dieser Strahlengänge auf das ortsauflösende Empfängerarray (22) der CCD-Kamera vorgesehen ist.

5. Anordnung nach Anspruch 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß zur örtlich getrennten Abbildung der Meß- und Referenzstrahlenganges (3; 4) auf das Empfängerarray (22) ein gemeinsames optisches Abbildungssystem (17) vorgesehen ist, welchem in jedem der Strahlengänge mindestens ein Ablenkprisma (19; 20) in Lichtrichtung nachgeordnet ist.

6. Anordnung nach mindestens einem der vorgehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß der Monochromator eine, mehrere Interferenzfilter (9) tragende, schaltbare Filterscheibe (10) umfaßt.

7. Anordnung nach mindestens einem der vorgehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß eine keilförmige Teilerplatte (14) vorgesehen ist, deren mindestens eine optisch wirksame Oberfläche mindestens eine Antireflexionsschicht aufweist.

8. Anordnung nach mindestens einem der vorgehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß als Tei-

lerplatte eine Planparallelplatte (33) vorgesehen ist, welche mit der Proben- oder Mikrotiterplatte einen Winkel α einschließt, wobei mindestens eine optisch wirksame Oberfläche der Teilerplatte mindestens eine Antireflexionsschicht aufweist.

9. Anordnung nach mindestens einem der vorgehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die den Beleuchtungsstrahlengang (1) kollimierende Baugruppe (11) und/oder die optischen Abbildungselemente zur Abbildung des Meß- und Referenzstrahlenganges (3; 4) in der Aperturblenden- oder Zwischenbildebene und/oder die weiteren optischen Abbildungselemente zur Abbildung dieser Aperturblenden oder Zwischenbildebene auf das ortsauflösende Detektorarray der CCD-Kamera abbildende Reflektoren (40; 41; 42; 43) sind.

10. Anordnung nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, daß die optischen Abbildungselemente zur Abbildung des Meß- und Referenzstrahlenganges in der Aperturblenden- oder Zwischenbildebene und/oder die weiteren optischen Abbildungselemente zur Abbildung dieser Aperturblenden- oder Zwischenbildebene auf das ortsauflösende Detektorarray (22) der CCD-Kamera konvexe und konkave und/oder ebene Reflektoren sind.

Hierzu 4 Seite(n) Zeichnungen

- Leerseite -

